

การศึกษาภาวะการมีอีโอซิโนฟิลสูงในหนู เนื่องจากการติดเชื้อพยาธิตัวจิ๋ว

ไพศาล ยิ่งยวด*

ประเสริฐ สัทธีเจริญชัย* เนตรนภา ศิริรานนท์**

Yingyoud P, Sittichareonchai P, Siriranon N. Study on eosinophilia in mice administered with *Gnathostoma spinigerum* larvae. Chula Med J 1988 Mar; 32(3) : 257-265

*Mice infected with *G. spinigerum* larvae were divided into 3 groups. The first were administered with 5 larvae, the second with 10, and the third with 5 followed by another 5 two weeks later. Their peripheral eosinophilia were assayed. After infection, each group showed eosinophilia from 2-4 weeks, the level peaking at two weeks before gradually dropping to normal level between 5-9 weeks after infection. In the reinfected group, two eosinophil peaks occurred, at two weeks after the first and two weeks after the second infection. Both peaks were not significantly different from the other group with an equal number of larvae administered. A direct correlation between the peak eosinophil levels and the larval number of infection was observed.*

Reprint requests : Yingyoud P, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10500, Thailand.

Received for publication. February 22, 1988.

* ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** นิสิตเทคนิคการแพทย์ ปีที่ 4 ปี 2528

โรคพยาธิตัวจิ๊ดซึ่งเกิดจากเชื้อ *G. spinigerum* เป็น หนอนพยาธิตัวกลม ซึ่งแพร่หลายมากทั้งในคนและสัตว์ โดยเฉพาะประเทศไทยและรองลงมาก็คือ ประเทศญี่ปุ่น และประเทศในเอเชียบางประเทศ สำหรับประเทศไทยนั้น มีความสำคัญยิ่ง เพราะพยาธิตัวจิ๊ดเคยทำให้เกิดโรคได้ทุกระบบในร่างกายที่พยาธิไชผ่าน เช่น ถ้าพยาธิอยู่ที่ผิวหนังก็จะเกิดอาการคัน บวมและเคลื่อนที่⁽¹⁾ หากเข้าอวัยวะที่สำคัญ ก็อาจเกิดความพิการได้ และถ้าเข้าสมองและไขสันหลังทำให้ผู้ป่วยถึงแก่ความตายได้⁽²⁻⁷⁾ โรคพยาธินี้ แม้ว่าจะมีรายงานการพบเป็นครั้งแรกทั้งในคนและสัตว์มาเป็นระยะเวลานานแล้วก็ตาม⁽⁸⁾ แต่การศึกษาเกี่ยวกับการวินิจฉัยและการรักษาที่ยังไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร สำหรับการวินิจฉัยว่าผู้ป่วยเป็นโรคพยาธิตัวจิ๊ดนั้น ในปัจจุบันนี้ยังไม่มีวิธีใดที่จะบ่งชี้ได้แน่ชัด นอกจากอาศัยประวัติการรับประทาน อาหาร อาการบวมเคลื่อนที่ การทดสอบทางผิวหนัง (Skin test) และการตรวจดูระดับเม็ดเลือดขาวชนิด Eosinophil

ในอดีตได้มีรายงานเกี่ยวกับโรคพยาธิตัวจิ๊ดในคนไข้มากมาย ซึ่งจะปรากฏว่าในผู้ป่วยที่มีอาการบ่งชี้ว่าจะเป็นโรคนี้ หรือที่เป็นอย่างแน่ชัดโดยได้พยาธิตัวจิ๊ดออกมา เกือบทุกราย จะมีผลของระดับ Eosinophil สูงกว่าปกติ ดังเช่นรายงานของ Daengsvang⁽¹⁾ ได้รวบรวมรายงานการพบพยาธิตัวจิ๊ดในผู้ป่วย 40 ราย ซึ่งปรากฏว่าจำนวน 26 รายมีระดับอีโอสิโนฟิล 10-96% Pirompakdi⁽⁹⁾ ได้รายงานการวิเคราะห์ผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ดจำนวน 236 ราย พบว่าจำนวนอีโอสิโนฟิลในผู้ป่วยจะสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และจากสถิติผู้ป่วยที่พบพยาธิตัวจิ๊ดของภาควิชาปรสิตวิทยา ในระหว่างปี 2528-2530 จำนวน 20 คน ปรากฏว่า มีระดับอีโอสิโนฟิล 9-43% จากข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า Eosinophilia มีความสำคัญสำหรับประกอบการวินิจฉัยโรคพยาธิตัวจิ๊ดในคนให้ถูกต้องยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้ยังไม่มีรายงานยืนยันแน่นอนว่า เมื่อพยาธิตัวจิ๊ดเข้าสู่ร่างกายของคนแล้ว ในระยะที่วันจึงจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของระดับอีโอสิโนฟิล จะขึ้นสูงสุดหรือลดลงสู่ระดับปกติเมื่อใด หรือจะสัมพันธ์กับจำนวนพยาธิตัวจิ๊ดหรือไม่ และในกรณีผู้ป่วยได้รับพยาธิเข้าไปอีก (Reinfection) จะมีระดับอีโอสิโนฟิลเปลี่ยนแปลงอย่างไร ซึ่งปัญหาเหล่านี้ยังไม่มีการศึกษายืนยันได้แน่นอน เนื่องจากเราไม่ทราบระยะเวลาที่แน่นอนของการติดเชื้อ หรือผู้ป่วยมาพบแพทย์ภายหลังปรากฏอาการของโรคนานแล้ว และอีกประการหนึ่งนั้นเราไม่สามารถจะทำการทดลองได้ ดังนั้นเพื่อแก้ไขปัญหานี้ เราจึงได้ทำการทดลองในสัตว์ เพื่อศึกษาข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองนำมาศึกษา

เปรียบเทียบกับคนต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวินิจฉัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับอีโอสิโนฟิล ภายหลังการทำให้ติดเชื้อพยาธิตัวจิ๊ดตัวอ่อนระยะที่ 3 ในหนูถีบจักร 3 กลุ่มคือ

1. กลุ่มที่ติดเชื้อพยาธิ 5 ตัว
2. กลุ่มที่ติดเชื้อพยาธิ 10 ตัว
3. กลุ่มที่ติดเชื้อพยาธิ 5 ตัว และภายหลังการติดเชื้อ 2 สัปดาห์ทำให้ติดเชื้อพยาธิซ้ำอีก 5 ตัว

วัสดุและวิธีการ

พยาธิตัวจิ๊ดตัวอ่อนระยะที่ 3 (Advanced third-stage larvae of *G. spinigerum*) จำนวน 250 ตัว ที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ ได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ เพื่อการคงชีพจักรไขว้ของหน่วยหนอนพยาธิ ในภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย การทดลองได้ปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

1. ก่อนการศึกษาระดับอีโอสิโนฟิล ได้คัดเลือกหนูถีบจักรตัวเมียจำนวน 40 ตัว อายุระหว่าง 4-5 เดือน และมีน้ำหนักระหว่าง 25-30 กรัม หนูทุกตัวได้ผ่านการตรวจอุจจาระโดยวิธี Formalin-ether concentration technique⁽¹⁰⁾ แล้วไม่พบไข่พยาธิในอุจจาระ

2. แบ่งหนูที่คัดเลือกแล้วออกเป็น 4 กลุ่ม และทำการเจาะเลือดเพื่อการตรวจแยกนับเม็ดเลือดขาว หลังจากนั้นจึงได้ทำการป้อนเชื้อพยาธิในแต่ละกลุ่มดังนี้

กลุ่มควบคุม ไม่มีการป้อนเชื้อพยาธิ

กลุ่ม I ป้อนเชื้อพยาธิ 5 ตัวต่อหนู 1 ตัว

กลุ่ม II ป้อนเชื้อพยาธิ 10 ตัวต่อหนู 1 ตัว

กลุ่ม III ครั้งแรกป้อนเชื้อพยาธิเข้าไป 5 ตัวต่อหนู 1 ตัว

- 2 สัปดาห์ต่อมาป้อนเชื้อพยาธิซ้ำอีก โดยใช้พยาธิเท่ากับครั้งแรกคือ 5 ตัว

การป้อนเชื้อพยาธิโดยใช้สายโพลีเอทีลีนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9 มม. ต่อกับกระบอกฉีดยาขนาด 2 มล. ูดน้ำสะอาดเข้าไป 0.5 มล. แล้วดูดพยาธิซึ่งอยู่ในน้ำจำนวน 5 ตัวเข้าไป ให้พยาธิทั้งหมดอยู่ในสายโพลีเอทีลีน วางยาสลบหนูด้วยอีเทอร์ แล้วสอดสายผ่านหลอดอาหารของหนูไปจนถึงกระเพาะอาหาร ดันน้ำไล่ตัวพยาธิเข้าไปในกระเพาะอาหารให้หมดทุกตัว

3. ภายหลังการติดเชื้อพยาธิแล้ว ทำการเจาะเลือดหนูทุกกลุ่มทุกสัปดาห์รวมทั้งสิ้น 9 สัปดาห์

การเจาะเลือดหนูโดยการตัดหางด้วยกรรไกรครั้งละ

ประมาณ 1 มม. ก่อนตัดแช่ทางไว้ในน้ำอุ่นประมาณ 45° เซลเซียส นาน 1 นาที เมื่อตัดทางเสร็จแล้วเช็ดเลือดหยดแรกทิ้งใช้เลือดหยดต่อไปทำ Blood smear บนกระดาษใส 2 แผ่น โดยวิธี Thin blood film

4. ย้อมสี Blood smear ด้วยสี Wright's stain ตรวจแยกนับเม็ดเลือดขาว (Differential white blood cell count) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ นำผลการนับที่ได้ทั้ง 2 แผ่น สไลด์มาหาค่าเฉลี่ย แล้วบันทึกผลการตรวจนับเม็ดเลือดขาวของหนูแต่ละตัวทุกกลุ่มการทดลอง

5. นำหนูทุกตัวของทุกกลุ่มการทดลอง รวมทั้งกลุ่มควบคุมภายหลังสิ้นสุดการทดลองตรวจศพหนูทุกตัวเพื่อหาพยาธิ บันทึกผลการตรวจพบในอวัยวะต่าง ๆ ของหนูแต่ละตัว

หนูทุกกลุ่มก่อนและระหว่างการทดลอง ได้ให้การเลี้ยงดูในสภาพเดียวกัน โดยการเลี้ยงไว้ในกรงอยู่ในห้องเดียวกัน และให้การดูแลอย่างใกล้ชิด โดยการควบคุมอย่างระมัดระวังเกี่ยวกับความสะอาดของอาหารและน้ำดื่มเหมือน ๆ กัน หนูทุกตัวที่ตายก่อนกำหนดการทดลองจะได้รับการตรวจศพเพื่อค้นหาพยาธิเช่นเดียวกับหนูที่ครบกำหนด

ผล

ผลการตรวจนับจำนวน % Eosinophil

ก่อนการติดเชื้อ (Pre-infection) พบว่าจำนวน % Eosinophil ของหนูทั้ง 4 กลุ่ม มีค่าใกล้เคียงกันมาก หนูที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุม (Control) มีจำนวน % Eosinophil ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่า % Eosinophil ในหนูที่ใช้เป็นกลุ่มศึกษาแต่ละกลุ่มทั้ง 3 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P 0.05) ตามตารางที่ 1

ภายหลังการติดเชื้อของหนูกลุ่มศึกษาทั้ง 3 กลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 1 จำนวน % Eosinophil ของแต่ละกลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแล้วไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) ซึ่งแสดงว่ายังไม่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับ Eosinophil แต่ภายหลังการติดเชื้อ 2-4 สัปดาห์ พบว่าจำนวน % Eosinophil สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.005) และภายหลังการติดเชื้อ 5-9 สัปดาห์ ปรากฏว่าหนูที่ติดเชื้อพยาธิทุกกลุ่มเมื่อเปรียบเทียบกับค่า % Eosinophil แต่ละกลุ่มโดยทางสถิติ แล้วไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม (P > 0.05) ซึ่งแสดงว่าระดับ % Eosinophil ของทั้ง 3 กลุ่มทดลองได้ลดลงใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 1)

Table I Result of the eosinophil counts in four groups of mice and comparing the level of eosinophil in mice between the infected groups and control group.

Group	Pre-infection	After infection (Week)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
I	0.7 ± 1.4* (0 - 5)**	2.8 ± 1.6 (0 - 6)	12.6 ± 4.7 (2 - 23)	10.9 ± 6.2 (1 - 23)	6.6 ± 4.1 (0 - 16)	3.4 ± 1.8 (0 - 7)	4.4 ± 3.3 (0 - 13)	4.0 ± 2.1 (1 - 11)	1.4 ± 1.4 (0 - 5)	4.6 ± 2.4 (1 - 10)
II	0.9 ± 1.1 (0 - 4)	2.5 ± 1.4 (0 - 6)	27.5 ± 10.9 (11 - 45)	13.0 ± 6.4 (7 - 25)	8.5 ± 4.0 (5 - 19)	3.5 ± 1.8 (0 - 10)	3.1 ± 2.8 (0 - 7)	5.2 ± 5.3 (0 - 13)	0.9 ± 1.1 (0 - 4)	1.4 ± 1.3 (0 - 4)
III	0.3 ± 0.4 (0 - 2)	2.4 ± 1.5 (0 - 5)	15.1 ± 7.3 (1 - 37)	11.8 ± 6.8 (0 - 37)	14.0 ± 4.3 (1 - 21)	4.3 ± 4.3 (1 - 12)	5.6 ± 4.0 (0 - 14)	5.3 ± 3.4 (0 - 16)	1.6 ± 4.4 (0 - 7)	2.6 ± 1.6 (0 - 6)
Control	0.6 ± 2.2 (0 - 3)	0.9 ± 0.7 (0 - 2)	2.1 ± 1.4 (0 - 4)	2.3 ± 1.8 (0 - 4)	1.7 ± 1.3 (0 - 4)	1.5 ± 1.3 (0 - 5)	1.1 ± 0.9 (0 - 4)	2.2 ± 1.0 (0 - 5)	1.6 ± 0.6 (0 - 5)	1.6 ± 1.1 (0 - 5)
I Vs Control	N.S.	N.S.	P < 0.005 [#]	P < 0.005	P < 0.005	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
II Vs Control	N.S.	N.S.	P < 0.005	P < 0.005	P < 0.005	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
III Vs Control	N.S.	N.S.	P < 0.005	P < 0.005	P < 0.005	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

* Mean ± SD, SD = Standard deviation
** Range

[#] P Value of t-test
N.S. = Not significant

จากตารางที่ 1 ซึ่งได้แสดงไว้ จะเห็นได้ว่าในกลุ่มที่ 1 และ 2 ภายหลังการติดเชื้อ 2 สัปดาห์ มีจำนวน % Eosinophil สูงกว่า 3 และ 4 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.005$) ส่วนกลุ่มที่ 3 พบว่า 2 และ 4 สัปดาห์ มี % Eosinophil สูงกว่าทุกสัปดาห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.005$) ซึ่งปรากฏให้เห็นได้อย่างชัดเจนในรูปที่ 1 กลุ่มที่ 3 เห็นเป็น 2 Peaks ส่วนกลุ่มที่ 1 และ 2 มีกลุ่มละ 1 Peak เท่านั้น การที่กลุ่มที่ 3 มี 2 Peaks หรือมีจำนวน % Eosinophil ขึ้นสูงสุด 2 ครั้งนั้น เกิดจากการทำให้หนูติดเชื้อ 2 ครั้ง ครั้งแรก

(Peak ที่ 1) ได้ทำให้หนูติดเชื้อพยาธิ 5 ตัว เมื่อเทียบกับค่า % Eosinophil สูงสุด ของกลุ่มที่ 1 ทำให้หนูติดเชื้อพยาธิ 5 ตัวเช่นเดียวกัน มีค่าใกล้เคียงกันและไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ครั้งที่ 2 (Peak ที่ 2) ได้ทำให้หนูติดเชื้อซ้ำ (Re-infection) ด้วยเชื้อพยาธิ 5 ตัว ภายหลังการติดเชื้อ 2 สัปดาห์ของการป้อนเชื้อครั้งที่ 2 จึงปรากฏค่า % Eosinophil ขึ้นสูงสุดอีกครั้ง เมื่อเปรียบเทียบจำนวน % Eosinophil ครั้งนี้กับครั้งแรกแล้วใกล้เคียงกัน และไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

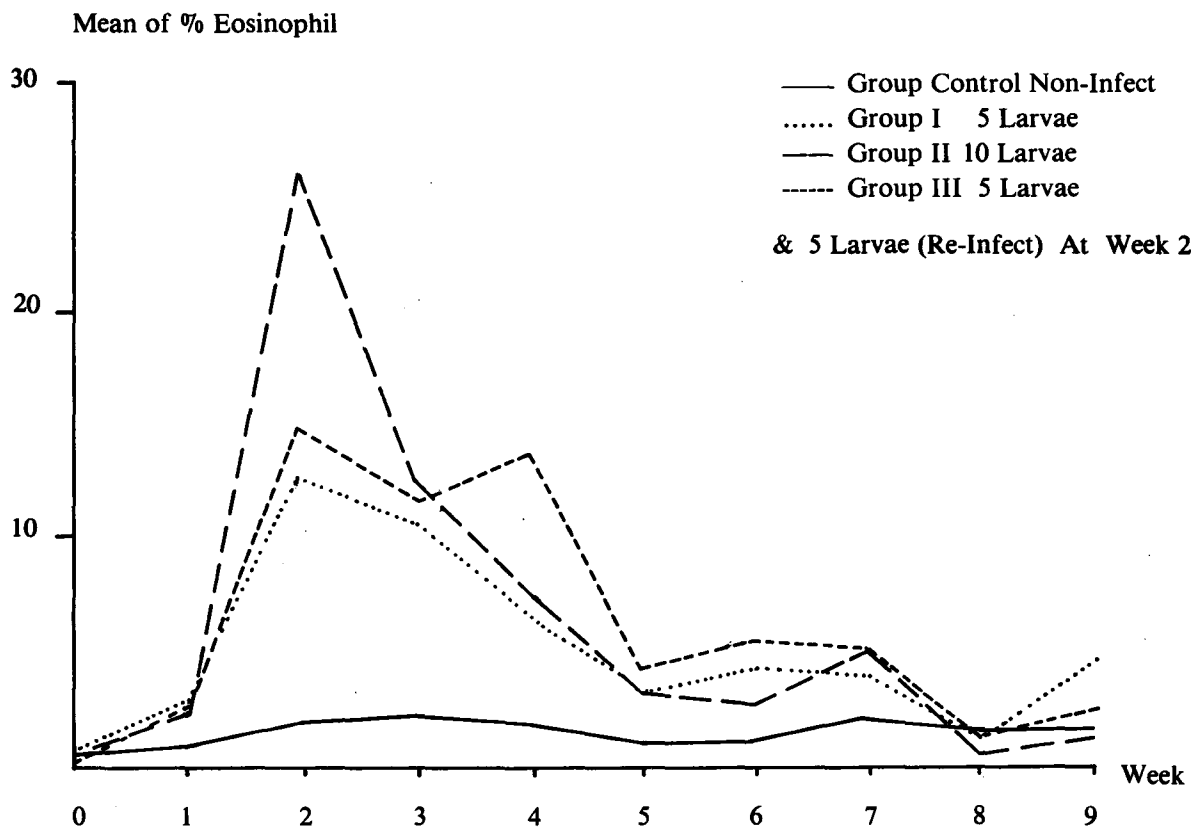


Figure 1 Changing the levels of eosinophil in three infected group and noninfected group.

สำหรับกลุ่มที่ 2 ซึ่งได้ทำให้หนูแต่ละตัวติดเชื้อพยาธิ 10 ตัว พบว่าภายหลังการติดเชื้อ 2 สัปดาห์ มีค่า % Eosinophil มากกว่า 3 และ 4 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและพบภายหลังการติดเชื้อ 2 สัปดาห์ของกลุ่มนี้ มีค่า % Eosinophil มากกว่าค่าสูงสุดของกลุ่มที่ 1 และ 3 ประมาณ 2 เท่า และมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.005$) ซึ่งก็แสดงว่า จำนวน % Eosinophil สูงสุด มีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนพยาธิที่ติดเชื้อในหนู

ผลการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวของกลุ่มควบคุม

กลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้ทำให้ติดเชื้อพยาธิ ได้ทำการตรวจเลือดหนูรวมทั้งสิ้น 10 ครั้ง ได้ผลการตรวจแยกนับเม็ดเลือดขาวดังต่อไปนี้คือ

Neutrophil	6-38 %
Lymphocyte	60-94 %
Eosinophil	0-5 % (Mean = 1.52 SD = 1.35 %)

Monocyte 0-5 %
Basophil 0-1 %

เลย ส่วนหนูทุกตัวของกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ที่อยู่ครบตามกำหนด และที่ตายก่อนสิ้นสุดการทดลอง ตรวจพบพยาธิตัวจิ๊ดทั้งหมดเป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 อยู่ในถุงหุ้ม (Encysted third-stage larva) ผลการตรวจศพได้รวบรวมไว้ในตารางที่ 2

ผลการตรวจศพหนู

ปรากฏว่าหนูกลุ่มควบคุมตรวจไม่พบพยาธิตัวจิ๊ด

Table 2 Result of autopsy findings of *G.spinigerum* advanced third-stage larvae from mice.

Group	No. Infected Mice	Total Larvae Infection	No. Mice Found Larvae	Autopsy Day	Autopsy Finding		Remark
					Organ Infected and number of <i>G.spinigerum</i> larvae	Total Larvae Found	
1	10	50	10	35-73	Liver 2 Body Muscle 30 Abd. Fat 1 Sub. Tissue 2	*35(70%)	I dead after 35 days
11	10	100	10	42-75	Liver 2 Body Muscle 62 Abd.Fat 2 Sub.Tissue 2	*68(68%)	I dead after 42 days I dead after 63 days
111	10	100	10	28-77	Liver 3 Body Muscle 65 Abd.Fat 2 Sub.Tissue 3	*73(73%)	I dead after 49 days I dead after 49 days I dead after 63 days
Control	-	-	-	63-77	-	-	-

* All larvae were encysted third-stage larvae of *G.spinigerum*

วิจารณ์

การศึกษาเกี่ยวกับค่าปกติของเม็ดเลือดขาวในหนูถีบจักรนั้น ได้มีผู้วิจัยหลายท่านรายงานค่าปกติของการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 และเมื่อนำมาเทียบกับผลที่ได้จากกลุ่มควบคุมในการทดลองครั้งนี้ ปรากฏว่ามีค่าใกล้เคียงกับค่าปกติของผู้วิจัยหลายท่าน⁽¹¹⁾ เมื่อนำผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ไปเปรียบเทียบกับค่าปกติของคน ซึ่ง Wintrobe⁽¹²⁾ ได้รายงานไว้ ปรากฏว่าค่า % ของ Neutrophil ภายหลังการติดเชื้อพยาธิตัวจิ๊ดในหนู น่าจะคล้ายคลึงกับคนหรือสามารถเปรียบเทียบกับคนได้ ในช่วงระยะเวลาก่อนที่พยาธิจะถูกห่อหุ้มด้วยผนังชีสต์ (Encysted larva) และภายหลังที่พยาธิถูกห่อหุ้มด้วยผนังชีสต์แล้ว ซึ่งระยะเวลาที่เร็วที่สุดในหนูที่มีผู้รายงานไว้คือ 3 สัปดาห์⁽¹⁾ ระดับ Eosinophil อาจแตกต่างกับในคนได้ เนื่องจากยังไม่มีรายงานการพบ Encysted larva ในคนเลย

ผลการตรวจเลือดหนูที่ติดเชื้อพยาธิทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าระดับ Eosinophil ขึ้นสูงกว่าปกติในสัปดาห์ 2-4 แต่ในสัปดาห์ 5-9 ระดับ Eosinophil ได้ลดลงสู่ระดับปกติ การที่ปรากฏผลเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจากพยาธิที่ติดเชื่อในหนูทุกตัวได้อยู่ในถุงหุ้มแล้ว ดังจะเห็นได้จากผลการตรวจศพหนูที่ตายก่อนกำหนด 1 ตัว ภายหลังการติดเชื้อ 28 วัน พยาธิที่ตรวจพบทุกตัวอยู่ในถุงหุ้มแล้ว และหนูทุกตัวที่ได้ตรวจศพหลังจากนี้ก็ปรากฏผลเช่นเดียวกัน คล้ายกับรายงานของ Daengsvang⁽¹⁾ การที่พยาธิอยู่ในถุงหุ้มไม่สามารถไชเคลื่อนที่ไปในอวัยวะต่าง ๆ ได้ตามปกติการปล่อย Gnathostome toxin⁽¹³⁾ ออกจากตัวพยาธิก็น่าจะลดน้อยลงหรือถ้ามีการปล่อยสารพิษนี้ออกมาก็อาจจะมีน้อยกว่าปกติ และการซึมผ่านออกมาในถุงหุ้มก็คงจะเป็นไปได้ยาก จึงทำให้ไม่เกิดภาวะที่จะกระตุ้นให้มีการสร้าง Eosinophil จากไขกระดูกเพิ่มขึ้นเนื่องจาก Antigen ของหนอนพยาธิ⁽¹⁴⁾ ดังนั้นภายหลังการเกิด Ency-

Table 3 Showing the normal values of differential leukocyte count in mice.

Authors	Neutrophils	Eosinophils	Basophils	Lymphocytes	Monocytes
Hirschfeld 1897	25	3	-	60	12
Kabierski 1916	24	2.5	-	72.7	0.8
Jaffe 1921	10-47.5	2-4.5	-	69.5	2-8.5
Klieneberger 1927	4-26	0-2	1	72-91	2
Schafer 1940	5-65	0-4	0-1	35-95	0-3
Albritton 1955	12-44	0-5	0-1	54-85	0-15
Schermer 1967	10-60	0-7	-	35-87	0-2
From this report	6-38	0-5	0-1	60-94	0-5

sted larva แล้ว คือในระยะเวลาประมาณ 4 สัปดาห์ ภายหลังการติดเชื้อพยาธิตัวจิ๊ดในหนู จึงปรากฏว่าระดับ Eosinophil ลดลงสู่ระดับปกติเหมือนกับหนูกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้ติดเชื้อพยาธิ

จากการรวบรวมรายงานการพบพยาธิตัวจิ๊ดในคนของ Daengsvang นั้น ปรากฏว่า พบพยาธิทั้ง 3 ระยะคือ ตัวอ่อน ตัวแก่ไม่เต็มวัย และตัวแก่เต็มวัยเพศผู้⁽¹⁾ แต่ยังไม่เคยมีรายงานการพบพยาธิตัวแก่เต็มวัยในกระเพาะอาหาร หรือตรวจพบไข่พยาธิตัวจิ๊ดออกมากับอุจจาระคนเลย ดังนั้นคนจึงไม่ใช่ Definitive host นอกจากนี้แล้วพยาธิที่พบของแต่ละคน ก็มีเพียงตัวเดียว หรืออาการที่เกิดขึ้นเนื่องจากพยาธิก็บ่งชี้ว่าเกิดจากพยาธิตัวเดียวเกือบทั้งสิ้น ถึงแม้ว่าจากสถิติของภาควิชาปรสิตวิทยา ในระหว่างปี 2528-2530 มีผู้ป่วย 2 คนที่แต่ละคนได้พยาธิ 2 ตัว จากจำนวนผู้ป่วยทั้งสิ้น 20 คน จำนวนตัวจิ๊ดที่พบในคนก็ยังนับว่าพบน้อยมาก ถ้าพิจารณาถึงจำนวนพยาธิระยะติดต่อที่พบได้มากมายในสัตว์แต่ละตัวจากธรรมชาติ เช่น ปลาช่อน 1 ตัว พบพยาธิตัวจิ๊ดสูงสุดถึง 153 ตัว เป็นต้น และการแพร่กระจายของเชื้อในสัตว์ต่าง ๆ เฉพาะที่ได้สำรวจพบแล้วมีถึง 44 ชนิด⁽¹⁾ นอกจากนี้แล้วลักษณะนิสัยการชอบรับประทานอาหารดิบ ๆ สุก ๆ ของคนไทย จึงอาจได้รับพยาธิครั้งละหลาย ๆ ตัวบ่อยครั้ง รายงานการค้นคว้าเกี่ยวกับความทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ พบว่าตัวอ่อนระยะติดต่อยังมีความทนทานต่อการมีชีวิตอยู่ได้นานมาก^(15,16) และจากการป้อนตัวอ่อนระยะติดต่อเข้าสู่สัตว์ทดลองพบว่าติดเชื้อเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ จากข้อมูลเหล่านี้เราจึงอาจสรุปได้ว่า ในคนที่พบพยาธิตัวจิ๊ดคงจะได้รับเชื้อพยาธิหลายตัว แต่จากหลักฐานการตรวจพบพยาธิตัวจิ๊ดในคนเกือบทั้งหมด ปรากฏว่าพบพยาธิเพียงตัวเดียวดังได้กล่าวมาแล้ว และอาการบวมเคลื่อนที่ซึ่งปรากฏให้เห็นในผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะเป็นตัวจิ๊ดก็

มีเพียงแห่งเดียว ยังไม่เคยปรากฏให้เห็น 2 แห่งพร้อม ๆ กัน ทำให้เกิดปัญหาขึ้นว่า “เมื่อคนได้รับตัวจิ๊ดเข้าไปครั้งละหลาย ๆ ตัว ตัวอื่น ๆ ที่ไม่ปรากฏอาการให้เห็นหายไปไหน หรือคนที่ได้รับเชื้อเข้าไปจะเป็นโรคตัวจิ๊ดเหมือนกันหมดทุกคนหรือไม่”

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองต่าง ๆ โดยเฉพาะสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมพบว่า ภายหลังที่ได้รับเชื้อตัวจิ๊ด พยาธิทั้งหมดจะต้องไชเข้าไปอยู่ในตับระยะหนึ่ง หลังจากนั้นจะออกจากตับไปอยู่ตามกล้ามเนื้อทั่ว ๆ ไปและได้ผิวหนังมีเพียงส่วนน้อยมากที่จะยังคงอยู่ในตับ โดยพยาธิทั้งหมดยังเป็นตัวอ่อนระยะที่สาม แต่อยู่ในถุงหุ้ม (Encysted larva)⁽¹⁾ นอกจากสัตว์ที่เป็น Definitive host เช่น สุนัข และแมวที่พยาธิตัวอ่อนจะเจริญเติบโตต่อไป เป็นตัวแก่ไม่เต็มวัยและตัวแก่เต็มวัยอาศัยอยู่ในกระเพาะ แต่ผู้รายงานที่ 1 เคยทำการค้นคว้าร่วมกับท่านศาสตราจารย์นายแพทย์สวัสดิ์ แดงสว่าง ได้พบว่าแมว 2 ตัวซึ่งได้ผ่านการทำให้ติดเชื้อหลายครั้ง ได้ตรวจพบพยาธิตัวจิ๊ดทุกตัวยังเป็นตัวอ่อนระยะที่สาม และเกิดซิสต์หุ้มทุกตัว ซึ่งการพบในแมวทั้ง 2 ตัวนี้ยังไม่ได้รายงาน นอกจากนี้แล้วจากการทดลองในลิงและชะนี ก็ปรากฏว่าพยาธิทุกตัวที่ตรวจพบอยู่ในถุงหุ้มทุกตัว^(17,18) จากหลักฐานเหล่านี้ทำให้ผู้รายงานเชื่อว่า เมื่อคนได้รับเชื้อพยาธิตัวจิ๊ดระยะที่สามเข้าไป เชื้อพยาธิทุกตัวน่าจะไชไปที่ตับก่อนหลังจากไชออกจากตับแล้ว ก็จะไปตามกล้ามเนื้อและเกิดซิสต์หุ้มขึ้นเช่นเดียวกับที่พบในสัตว์ทดลอง ถ้าพยาธิทุกตัวถูกซิสต์หุ้มหมดก็จะไม่เกิดอาการของโรคพยาธิตัวจิ๊ด ถึงแม้ว่ายังไม่เคยมีรายงานการพบพยาธิอยู่ในถุงหุ้มในคนเลยก็ตาม แต่ผู้รายงานเชื่อว่ายังไม่มีผู้ใดค้นหาลักษณะจริงจังมากกว่า สำหรับผู้ป่วยที่พบพยาธิหรือมีอาการของโรคพยาธิตัวจิ๊ด อาจจะเป็นเพราะว่าได้รับพยาธิตัวจิ๊ดบางตัวที่ติดเชื้ออยู่ในสัตว์ตาม

ธรรมชาติเป็นระยะเวลาสั้น มีขนาดใหญ่และแข็งแรงมากกว่าตัวอื่น ๆ และคงจะไชเคลื่อนที่อยู่เสมอ จึงทำให้โฮสต์ไม่สามารถสร้างซีสต์ห่อหุ้มตัวพยาธิได้ พยาธิจึงเจริญเติบโตกลายเป็นตัวแก่ไชเคลื่อนที่ต่อไป ถ้าไชอยู่ในบริเวณต้นไถสกีผิวหนังก็จะเกิดอาการบวมเลื่อนที่ ถ้าอยู่ลึกหรืออยู่ตามอวัยวะภายในร่างกายก็จะไม่ปรากฏอาการบวมเลื่อนที่ให้เห็นได้ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ไม่ใช่ Definitive host ซึ่งตามปกติแล้วจะเกิดซีสต์ห่อหุ้มตัวอ่อนระยะที่สามภายหลังการติดเชื่อทุกตัว แต่ได้มีผู้รายงานว่าพบพยาธิตัวแก่ ในหนู⁽¹⁹⁾ (Laboratory rat) และหนูถีบจักร (Mouse)⁽²⁰⁾ คล้ายกับที่พบในคน จากหลักฐานการพบตัวจิ๋วในคนเกือบทั้งหมดพบเพียงตัวเดียว ประกอบกับผลการศึกษาในสัตว์ทดลองดังได้กล่าวมาแล้ว ทำให้เรามีความเห็นว่าผู้ป่วยทุกคนที่ได้รับเชื่อตัวจิ๋วเข้าไป อาจจะไม่แสดงอาการบวมเลื่อนที่ทุกคน เนื่องจากปฏิกิริยาการต่อต้านของร่างกายทำให้เกิดการสร้าง Fibrous tissue ขึ้นห่อหุ้มตัวพยาธิทำให้เคลื่อนที่ไปไม่ได้ แต่ก็มีพยาธิบางตัวที่ร่างกายไม่สามารถสร้างผนังซีสต์ห่อหุ้มตัวพยาธิได้ จึงปรากฏอาการโรคตัวจิ๋วให้เห็นได้ซึ่งก็จะมีจำนวนน้อย

ถ้าหากว่าในคนเกิดซีสต์ห่อหุ้มตัวอ่อนพยาธิตัวจิ๋วจริงตามที่ได้คาดคะเนไว้ ซึ่งก็คล้ายกับที่ได้พบในหนูจากการทดลองครั้งนี้ ทำให้น่าคิดว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับอีโอซิโนฟิลภายหลังการติดเชื่อ ก็น่าจะคล้ายคลึงกับสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนมอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ Definitive host หรือเช่นเดียวกับผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางสำหรับผู้ที่จะศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของระดับเม็ดเลือดขาวชนิดนี้ต่อไป หรือนำไปประกอบการวินิจฉัยโรคพยาธิตัวจิ๋วในคนได้แน่นอนยิ่งขึ้น เราจึงขอเสนอความเห็นเกี่ยวกับการเดินทางของพยาธิตัวจิ๋วภายหลังการติดเชื่อในคน โดยอาศัยผลการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ได้มีผู้รายงานไว้⁽¹⁾ และผลการตรวจศพหนูในการศึกษาครั้งนี้และการเปลี่ยนแปลงของระดับอีโอซิโนฟิลของคน โดยอาศัยผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เป็นเกณฑ์ดังนี้คือ

ภายหลังพยาธิตัวอ่อนระยะติดต่อเข้าสู่ร่างกายคนโดยการกิน ตัวอ่อนของพยาธิก็จะไชผนังกระเพาะอาหารและลำไส้ เดินทางไปอาศัยอยู่ในตับระยะหนึ่ง หลังจากนั้นก็จะไชออกจากตับผ่านกล้ามเนื้อและ Connective tissue ไปตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งตามความคาดคะเนของผู้รายงานแล้ว ภายหลังผู้ป่วยได้รับเชื่อ 4 สัปดาห์ก็จะเกิดซีสต์ห่อหุ้มตัวพยาธิเกือบทั้งหมด อาจมีบางคนที่พยาธิบางตัวไม่ถูกห่อหุ้มด้วยผนังซีสต์ ก็จะไชเคลื่อนที่แล้วเจริญเติบโต

ต่อไปกลายเป็นพยาธิตัวแก่ สำหรับการเปลี่ยนแปลงของระดับอีโอซิโนฟิลในคนนั้นน่าจะเริ่มเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นในระหว่างสัปดาห์ที่ 1-2 และจะสูงขึ้นอย่างเด่นชัดหรือขึ้นสูงสุดปลายสัปดาห์ที่ 2 สำหรับบางคนที่พยาธิถูกผนังซีสต์ห่อหุ้มตัวทั้งหมด ระดับอีโอซิโนฟิลก็จะเริ่มลดลงสู่ระดับปกติภายหลังสัปดาห์ที่ 5 และตลอดไปถ้าพยาธิยังอยู่ในถุงหุ้ม ส่วนบางคนที่ไม่มีพยาธิบางตัวไม่ถูกห่อหุ้มด้วยผนังซีสต์ ผู้รายงานยังไม่สามารถให้การคาดคะเนเกี่ยวกับระดับอีโอซิโนฟิลได้ เนื่องจากการตรวจหนูที่ติดเชื่อครั้งนี้ในระยะเวลา 28-77 วัน พบว่าพยาธิอยู่ในถุงหุ้มทั้งหมด สำหรับคนที่ได้รับเชื่อซ้ำเป็นครั้งที่ 2 ระดับอีโอซิโนฟิล ก็จะขึ้นสูงสุดอีกครั้งปลายสัปดาห์ที่ 2 หลังจากนั้นก็จะลดลงสู่ระดับปกติเช่นเดียวกับครั้งแรก

จากข้อคิดเห็นและการคาดคะเนต่าง ๆ ที่ได้กล่าวแล้ว ผู้รายงานได้อธิบายและได้คาดคะเน โดยอาศัยหลักฐานแวดล้อมจากผลการศึกษาในสัตว์ทดลองที่มีผู้รายงานไว้ ร่วมกับผลการทดลองครั้งนี้ด้วยซึ่งอาจจะมีผู้ไม่เห็นด้วยก็ได้ อย่างไรก็ตามเกี่ยวกับภาวะการมีระดับอีโอซิโนฟิลในเลือดสูงขึ้น นอกจากโรคพยาธิตัวจิ๋วแล้ว ในคนยังมีอีกหลายโรคและหลายภาวะที่กระตุ้นให้มีการสร้างอีโอซิโนฟิลมากขึ้น เช่นการมีหนอนพยาธิชนิดอื่น ๆ การขาดธาตุแมกนีเซียมในอาหารอย่างเฉียบพลัน Addison's disease Allergic disorders ฯลฯ^(14,21) ดังนั้นในการวินิจฉัยผู้ป่วยเป็นโรคอื่น ๆ ซึ่งสามารถทำให้เกิดภาวะการมีอีโอซิโนฟิลในเลือดสูงขึ้นได้ร่วมอยู่ด้วย จึงไม่ควรใช้การเปลี่ยนแปลงของระดับอีโอซิโนฟิลสำหรับการวินิจฉัยโรคพยาธิตัวจิ๋วในคน ซึ่งก็อาจเกิดการวินิจฉัยผิดพลาดขึ้นได้

สรุป

1. หนู (mice) ซึ่งติดเชื่อพยาธิตัวจิ๋วระยะที่ 3 มีระดับ Eosinophil เริ่มสูงกว่าปกติ ในระหว่างสัปดาห์ที่ 1 และที่ 2 ภายหลังการติดเชื่อ โดยขึ้นสูงสุดปลายสัปดาห์ที่ 2 หลังจากนั้นก็ลดลงสู่ระดับปกติในสัปดาห์ที่ 5 ภายหลังการติดเชื่อ
2. ระดับ Eosinophil ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนพยาธิตัวจิ๋วที่ติดเชื่อโดยหนูกลุ่มที่ติดเชื่อจำนวนมาก พบว่ามีจำนวน % Eosinophil ที่ขึ้นสูงสุดสูงกว่าหนูกลุ่มที่ติดเชื่อจำนวนน้อย และหนูกลุ่มที่ติดเชื่อเท่ากัน มีระดับ Eosinophil ที่ขึ้นสูงสุดใกล้เคียงกัน
3. หนูกลุ่มที่ติดเชื่อซ้ำ (Re-infection) ระดับ Eosinophil ขึ้นสูงสุดอีกครั้งหนึ่ง ภายหลังการติดเชื่อ 2 สัปดาห์เช่นเดียวกันกับการติดเชื่อครั้งแรก และใกล้เคียงกับ

ครั้งแรก แต่การลดลงสู่ระดับปกติเร็วกว่ากลุ่มอื่น ๆ 2 สัปดาห์

4. ค่าปกติของเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ ของเลือดหนู ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้คือ

Neutropil	6-38 %
Lymphocyte	60-94 %
Eosinophil	0-5 %
Monocyte	0-5 %
Basophil	0-1 %

5. ผลการตรวจศพหนูภายหลังการติดเชื้อพยาธิตัวจิ๊ด 28-77 วัน พยาธิตัวจิ๊ดที่ตรวจพบทั้งหมดเป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 อยู่ภายในถุงหุ้ม (Encysted *Gnathostoma spinigerum* advanced third-stage larvae) และพยาธิ

อ้างอิง

1. Daengsvang S. A monography on the genus *Gnathostoma* and gnathostomiasis in Thailand. SEAMIC South-East Asian Medical Information Center, Tokyo. 1980.
2. บรรจงศักดิ์ นະมาตร์, มาลัย เหล่าสุนทร, เอนก เทพวงษ์, ธวัช โลพันธ์ศรี. พยาธิตัวจิ๊ดในช่องส่วนหน้าของลูกตา, รายงานผู้ป่วย 1 ราย. จดหมายเหตุทางแพทย์ 2505 พฤศจิกายน, 45(11) : 549-556
3. Catchavaree A, Supiyaphun P, Sithichareonchari P, Suphanakorn S. A case of aural *Gnathostomiasis*. *Auris Nasus Larynx* (Tokyo) 1985; 12:163-167
4. Chitchang S, Chittanonda P, Pevahuti T, Daengsvang S. *Gnathostoma spinigerum* : a summary of four cases reports on emergence. *J Parasit Trop Med Assoc Thai* 1981; 4(1): 23
5. Chitanondh H, Rosen L. Fatal eosinophilic encephalomyelitis caused by the nematode *Gnathostoma Spinigerum*. *Am J Trop Med* 1967 Sep; 16 (5): 638-645
6. Punyagupta S, Juttijudata P, Bunnag T, Comer DS. Two fatal cases of eosinophilic meningoencephalitis a newly recognized disease caused by *Gnathostoma Spinigerum*. *Trans R Trop Soc Med Hyg* 1968 Dec; 62(6) : 801-809
7. Boongird P, Phuapradit P, Sirdej N, Chirachariyavej T, Chirachariyavej T, Chuahirun S, Vejjajiva A. Neurological manifestations of gnathostomiasis. *J Neuro Sci* 1977 Mar; 31(2) : 279-291
8. สวัสดิ์ แดงสว่าง. ประวัติการพบพยาธิตัวจิ๊ดรายแรกของโลกจากหญิงไทย (The World's first story of *Gnathostoma spinigerum* infection in the young Thai women): *J Parasit Trop Med Assoc Thai* 1983; 6(1): 9
9. Pirompakdi Y. Clinical manifestations of *Gnathostoma spinigerum* infection: report of 236 cases. *Ramathibodi Med J* 1984 Sep; 7(3): 207-215
10. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bull US Army Med Dept* 1948 Apr; 8(4) : 326
11. Schermer S. *The Blood Morphology of Laboratory Animals*. 3rded. Illinois, Chicago: F.A. Davis, 1967. 65
12. Wintrobe MM, *Clinical Hematology*. Philadelphia: Lea and Fibiger, 1981.
13. Miyazaki I. On the genus *Gnathostoma* and human gnathostomiasis, with special reference to Japan. *Exp Parasit* 1960 Jun; 9(3): 338
14. ประพันธ์ ภาณุภาค วิทยานิพนธ์กัมภัง Asscessory Cells in the Immuno Response. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2527. 107-112
15. Tansurat P. (1947). Foods which Carry the Infective *Gnathostoma Spinigerum* Larvae to Human Beings. (in Thai. Thesis submitted to the Faculty of Medicine and Siriraj Hospital for the Degree for Doctor of Medicine in 1944 (B.E. 2487)
16. Setasuban P, Punsri W, Muennoo C. Effects of temperature, chemicals and some native Thai food upon the viability of the infective stage of *Gnathostoma spinigerum*. *J Parasit Trop Med Assoc Thai* 1981 Dec; 4(2): 77-85
17. Daengsvang S, Sirichakwal P, Yingyourd P, Machimasatha R. Studies of new experimental hosts, life cycles and modes of transmission of gnathostomes. *Ann Prog Rept SEATO*

- Med Res Lab 1971. 156
18. Daengsvang S. Infectivity of *Gnathostoma spinigerum* larvae in primates. *J Parasit* 1971 Jun; 57(3): 476-478
 19. Daengsvang S. A Monograph on the Genus *Gnathostoma* & *Gnathostomiasis* in Thailand. Tokyo: SEAMIC, 1980. 80 (ref Hirakawa M.)
 20. Daengsvang S. Development of female *Gnathostoma spinigerum* to morphological maturity in experimental mice. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1975 Jun; 6(2) : 285-286
 21. Maiale JB. Leukocytes: Leucocytosis, Leukopenia, and Functional Abnormalities. *Laboratory Medicine Hematology*. St Louis. : C.V. Mosby, 1982. 674-675